

Table des matières

I. Introduction	1
II. Contenu	1
III. Conservation	1
IV. Appareils et réactifs nécessaires non fournis	1
V. Suivi des modifications	1
VI. Protocole	2
1. Les échantillons	2
2. PCR	2
2.1. Volume à distribuer par puits	2
2.2. Cycles de PCR	2
3. Migration sur séquenceur	2
3.1. Dilution des produits de PCR	2
3.2. Préparation du mix de dépôt	2
3.3. Paramètres de migration	2
3. Analyse des données brutes	2
4. Comparaison des résultats de génotypage SNPXplex vs NGS et recherche de génoidentité	3
VII. Informativité	3
VIII. Support	3
IX. Troubleshooting	4
1. Problèmes touchant l'intensité des pics	4
2. Discordances*	5
Tableau VIII.3.1 – Liste des SNP étudiés et liste des variants connus pour interférer avec le SNPXplex (version du génome : GRCh37)**	6
Tableau VIII.3.2 – Liste des SNP étudiés et liste des variants connus pour interférer avec le SNPXplex (version du génome : GRCh38)**	8
X. Exemple de profils	10
XI. Identification des symboles	12

I. Introduction

Les recommandations de bonnes pratiques de séquençage haut débit s'accordent sur la nécessité de disposer d'une technique de vérification d'identité, basée sur la comparaison des génotypes de plusieurs polymorphismes, les génotypes étant obtenus de manière indépendante par séquençage haut débit (next generation sequencing, NGS) et par une seconde technique. Le **SNPXplex** est un kit de vérification d'identité permettant le génotypage simultané de 15 single nucleotide polymorphisms (SNP) par PCR multiplex fluorescente spécifique d'allèle et la détermination du sexe.

II. Contenu

Réactif : **SNPXplex** Volume : 1 200 µl soit l'équivalent de 130 réactions dans des conditions d'utilisation optimales.

III. Conservation

Les réactifs se conservent à une température de -20°C.

Les réactifs peuvent être conservés à température ambiante pendant 8 jours maximum à l'abri de la lumière.

IV. Appareils et réactifs nécessaires non fournis

Le kit a été préalablement testé et validé sur les thermocycleurs suivants :

- Eppendorf Vapo.Protect Mastercycler, MastercyclerX50a, Nexus
- Biometra T.Professional
- Life Technologies -Veriti
- Peqstar (VWR)
- Applied Biosystems SimpliAmp, 2700, 9700
- PeqLab, profex
- Biorad c1000, CFX96.

Séquenceur capillaire permettant de détecter le marquage fluorescent [6Fam]

Logiciel ou application d'analyse de taille de fragment

Formamide HiDi

Marqueur de taille (recommandé : GeneScan™ 400HD ROX™), il est possible d'utiliser un autre marqueur de taille tel que GeneScan™ 600 LIZ™ en prenant soin que le séquenceur soit paramétré pour analyser le fluorochrome du marqueur de taille.

V. Suivi des modifications

Notice V7 du 25 juin 2024 : Ajout de la liste des SNP interférents (version du génome : GRCh37 en sus de la version GRCh38) – modification mineure.

Notice V6 du 25/04/24 : Ajout d'un interférent supplémentaire dans le tableau n°VIII.3 (modification majeure). Précision sur les matrices de départ pour l'analyse SNPXplex (modification majeure) Ajout de séquenceurs capillaires supplémentaires validés (modification mineure).

VI. Protocole

A lire très attentivement avant utilisation

Pour réaliser toute vérification d'identité, il est **indispensable** que la technique orthogonale au NGS (ici le **SNPXplex**) soit exécutée **indépendamment** de la technique de NGS.

Il ne faut **en aucun cas utiliser tel quel le portoir des ADN mis en jeu dans la technique NGS pour exécuter la technique SNPXplex (ou inversement)** : si cela était fait, c'est une comparaison de méthode qui serait effectuée mais aucunement une vérification d'identité.

1. Les échantillons

Liste des kits d'extraction compatibles et validés avec le SNPXplex :

- NucleoSpin Blood kit (Macherey Nagel) (200 - 400 ng/µL ADN)
- Nucleon Bacc3 (Cytivia) (100 - 1000 ng/µL ADN)
- NucleoSpin 8 BLOOD (Macherey Nagel) (100 - 150 ng/µL ADN)
- Maxwell16 (50 - 200 ng/µL ADN)
- Extraction Chemagic (PerkinElmer) (50 - 200 ng/µL ADN)
- QIASymphony (80 - 200 ng/µL ADN)
- Wizard Promega (Précipitation) (22 - 500 ng/µL ADN)
- Extraction manuelle avec kit Macherey Nagel Nucleopin Tissue (20 - 80 ng/µL ADN)
- QIASymphony - Maxwell (20 - 400 ng/µL ADN)

☞ **Compatibilité pour les échantillons de départ : Le kit SNPXplex a été validé sur de l'ADN extrait de culture cellulaire, sang, plasma, tissu en FFPE**

2. PCR

2.1. Volume à distribuer par puits

SNPXplex	9 µL*
ADN (solution mère)	1 µL**
Volume final	10 µL

* En cas d'échec avec 9µL, le volume du réactif peut être augmenté jusqu'à 24 µL sans augmenter le volume d'ADN.

** Quantité d'ADN préconisé pour la PCR : Pour 9 µl de réactif : 0,5 à 700 ng/µL d'ADN.

☞ **Être extrêmement vigilant sur le bouchage des tubes/scellage des plaques de PCR**

2.2. Cycles de PCR

Dénaturation initiale	95°C	2 min	
Dénaturation	95°C	30 s	
Hybridation	65°C	3 min	30 cycles
Elongation	72°C	90 s	
Extension finale	72°C	10 mn	
Conservation	10°C	∞	

3. Migration sur séquenceur

3.1. Dilution des produits de PCR

Diluer les produits de PCR dans de l'eau stérile (en première intention au 1/50^{ème}, à ajuster localement).

3.2. Préparation du mix de dépôt

Ajouter à 1 µl de la dilution précédente 15 µl d'un mélange composé de :

	Volume
Formamide HiDi	15 µL
GeneScan™ 400HD ROX™	0.1 µL

3.3. Paramètres de migration

Sur Applied Biosystems® 3730/3730xl DNA Analyzer (Thermo Fisher), SeqStudio (Thermofisher) et Spectrum compact CE System (Promega) :

Température du Four	66°C
Temps d'injection	à déterminer localement
Pre-run voltage	15kV
Injection voltage	2kV
Dye Set Fluorochromes	Any4Dye-HDR (ou autre Dye Set incluant 6-Fam et le fluorochrome du marqueur de taille)

Autres séquenceurs : paramètres à déterminer par l'utilisateur

3. Analyse des données brutes

Pour obtenir les paramètres d'analyse sur GeneMapper™ Software 5.1 ou 6.0 software (Applied Biosystems), contacter support@bioxal.com.

Pour une analyse utilisant d'autres logiciels : suivre les recommandations de l'éditeur.

4. Comparaison des résultats de génotypage SNPXplex vs NGS et recherche de génoidentité

Les données de génotypage par **SNPXplex** peuvent être exportées via la fonction Export de GeneMapper™.

Utiliser les ressources locales pour :

- Comparer **patient par patient** les résultats du génotypage par **SNPXplex** à ceux obtenus par séquençage haut débit.
- Rechercher sur l'**ensemble des patients de la série** une éventuelle génoidentité entre deux patients.

VII. Informativité

Risque que deux patients d'une série de 96 portent le même génotype pour les 15 SNP, en fonction des fréquences GnomAD des SNP analysés et selon les populations : African/African-American [0.004113] ; East Asian [0.035343] ; European (Finnish) [0.002426] ; European (Non-Finnish) [0.002146] ; Latino/Admixed American [0.004324] ; South Asian [0.006360].

La détermination du sexe diminue ce risque d'un facteur n au plus égal à 2 en fonction du sex ratio dans la série (n=2 si le sex ratio dans la série est 1:1 ; n=1 si le sex ratio est totalement déséquilibré).

VIII. Support

En cas de problème ou pour toute information supplémentaire, merci de vous adresser prioritairement à support@bioxtal.com.

IX. Troubleshooting

1. Problèmes touchant l'intensité des pics

Constat	Cause(s) possible(s)	Conduite à tenir
Intensité trop faible pour l'ensemble des pics pour une majorité d'échantillons	<ul style="list-style-type: none"> Dilution trop forte des produits de PCR Temps d'injection sur le séquenceur trop faible Conditions de PCR non conforme 	<ul style="list-style-type: none"> Ne pas chercher à interpréter Soit redéposer la même plaque sur le séquenceur capillaire avec un temps d'injection plus long (NB : proportionnalité entre temps d'injection et intensité / pas de proportionnalité entre facteur de dilution et intensité). Alternativement, utiliser une dilution plus faible des produits de PCR. Soit refaire le <i>SNPXplex</i>
Intensité trop faible pour l'ensemble des pics pour 1 à n échantillons	<ul style="list-style-type: none"> ADN de moindre qualité pour ces échantillons ADN trop concentré pour ces échantillons 	<ul style="list-style-type: none"> Ne pas chercher à interpréter ces échantillons Soit faire l'identitovigilance à partir d'un variant unique du run NGS pour chaque échantillon concerné (seuil n à déterminer localement) Soit refaire le <i>SNPXplex</i> avec 24µl de réactif + 1 µl d'ADN
Intensité trop forte pour l'ensemble des pics pour une majorité d'échantillons	<ul style="list-style-type: none"> Dilution trop faible des produits de PCR Temps d'injection sur le séquenceur trop long 	<ul style="list-style-type: none"> Ne pas chercher à interpréter Redéposer la même plaque sur le séquenceur capillaire avec un temps d'injection plus court (NB : proportionnalité entre temps d'injection et intensité / pas de proportionnalité entre facteur de dilution et intensité). Alternativement, utiliser une dilution plus forte des produits de PCR.
Hétérogénéité d'intensité dans le run	<ul style="list-style-type: none"> Bouchage des tubes/scellage des plaques non optimal Volume réactionnel <9µl 	<p>⇒ Etre extrêmement vigilant sur le bouchage des tubes de PCR</p> <ul style="list-style-type: none"> Ne pas chercher à interpréter les échantillons trop faibles ni les trop forts Pour les trop forts : <ul style="list-style-type: none"> Redéposer la même plaque sur le séquenceur avec un temps d'injection plus court Puis refaire une comparaison avec les résultats NGS en utilisant les deux runs de <i>SNPXplex</i> Pour les trop faibles : <ul style="list-style-type: none"> Refaire le <i>SNPXplex</i> ou faire l'identitovigilance à partir d'un variant unique du run
Absence de pics pour 1 ou plusieurs SNP pour 1 ou plusieurs échantillons	<ul style="list-style-type: none"> Conditions de PCR non optimales ADN de moindre qualité pour ces échantillons ADN trop concentré pour ces échantillons 	<ul style="list-style-type: none"> Ne pas chercher à interpréter le(s) SNP concerné(s) En considérant uniquement les SNP restant interprétables (n<15) pour tous les échantillons de la série, y a-t-il absence de génoidentité pour l'ensemble de ces échantillons ? <ul style="list-style-type: none"> Oui ⇒ l'identitovigilance peut être validée pour l'ensemble de la série Non ⇒ <ul style="list-style-type: none"> Soit faire l'identitovigilance à partir d'un variant unique du run NGS pour chaque échantillon concerné Soit refaire le <i>SNPXplex</i> avec 24µl de réactif + 1 µl d'ADN pour chaque échantillon concerné

2. Discordances*

Constat	Cause(s) possible(s)	Conduite à tenir
Discordance sur plusieurs SNP	<p>⇒ Les ADNs testés sous le même identifiant en NGS et en <i>SNPXplex</i> ne sont pas identiques</p> <ul style="list-style-type: none"> • Inversion de deux échantillons ? • Erreur d'échantillon ? 	<ul style="list-style-type: none"> • L'analyse des discordances peut permettre de comprendre d'où vient le problème • Refaire le <i>SNPXplex</i> ou faire l'identitovigilance à partir d'un variant unique du run
<p>Discordance sur un seul SNP :</p> <ul style="list-style-type: none"> • SNP hétérozygote en NGS et homozygote en <i>SNPXplex</i> • SNP homozygote en NGS et hétérozygote en <i>SNPXplex</i> • Pic(s) à une position inattendue 	<p>Le <i>SNPXplex</i> est basé sur :</p> <ul style="list-style-type: none"> • Une PCR spécifique d'allèle • Une détermination du génotype basée sur la taille des produits de PCR <p>Il est donc sensible à tout ce qui peut interférer</p> <ul style="list-style-type: none"> • avec la PCR : variant autre que celui recherché sous une des amorces ⇒ empêche l'hybridation normale du primer sur sa séquence cible • avec la taille des produits de PCR : variant de type délétion ou insertion entre les deux amorces ⇒ modifie la taille attendue du produit de PCR. 	<ul style="list-style-type: none"> • Regarder les bams à la recherche d'un variant** pouvant interférer avec le résultat du <i>SNPXplex</i>. <ul style="list-style-type: none"> ○ Si un variant interférant expliquant la discordance est identifié, les résultats de NGS peuvent être validés ○ Si aucune cause n'est identifiée, faire l'identitovigilance à partir d'un variant unique du run NGS pour chaque échantillon concerné <p>**Se référer au tableau page suivante pour la liste des variants connus pour interférer avec le <i>SNPXplex</i></p>

* Pour une qualité de NGS et de *SNPXplex* satisfaisantes

Tableau VIII.3.1 – Liste des SNP étudiés et liste des variants connus pour interférer avec le SNPXplex (version du génome : GRCh37)**

SNP du SNPXplex					Interférence observée			
Rang (taille théorique ref-alt pb)	rs du SNPXplex	Chr	Coordonnées GRCh37	Allèles (ref/alt)	Allèle du SNPXplex observé par NGS	Coordonnées génomiques GRCh37 du variant interférant	Fréquence GnomAD (v2.1.1) du variant interférant [min – max population]	Type d'interférence*** - Effet observé sur SNPXplex
1 (103-106)	rs11702450	21	g.47703649	G/A	Pas de variant interférant connu			
2 (111-114)	rs843345	3	g.183906515	T/C	T	g.183906517C>T	0.00002805 [0 - 0.00006212 NFE]	H - Absence d'amplification de l'allèle T
3 (119-122)	rs1058018	17	g.47000251	C/T	C	g.47000252G>A	0.000003990 [0 - 0.00006173 AF]	H - Absence d'amplification de l'allèle C
					T	g.47000164_47000185del	-	H - Absence d'amplification de l'allèle T
						g.47000184_47000187del	0.0006751 [0 - 0.001350 SA]	T - Décalage du pic de l'allèle T de -4 pb, dans le bin de l'allèle C
4 (127-130)	rs8017	16	g.2821573	C/T	C	g.2821566_2821567del	0.0001944 [0 - 0.0006206 SA]	H - Absence d'amplification de l'allèle C
						g.2821629_2821631del	0.00004382 [0 - 0.0002025 Latino]	T - Décalage du pic de l'allèle C de -3 pb, en dehors de tout bin
					T	g.2821566_2821567del	0.0001944 [0 - 0.0006206 SA]	H - Absence d'amplification de l'allèle T
						g.2821570del	-	H - Absence d'amplification de l'allèle T
5 (135-138)	rs3738494	1	g.43124859	C/T	C	g.43124952C>T	0.00004949 [0.00 - 0.00008514 NFE]	H - Absence d'amplification de l'allèle C
						g.43124953C>T	-	H - Absence d'amplification de l'allèle T
					T	g.43124859_43124862delinsT	-	T - Décalage du pic de l'allèle T de -3 pb, dans le bin de l'allèle C
6 (143-146)	rs1065483	17	g.5284770	G/A	Pas de variant interférant connu			
7 (151-154)	rs2839181	21	g.47685939	A/G	A	g.47685932C>A	0.000007103 [0 - 0.00001550 NFE]	H - Absence d'amplification de l'allèle A
						g.47685933A>G	0.000003997 [0 - 0.00005442 EA]	H - Absence d'amplification de l'allèle A
						g.47685936G>A	-	H - Absence d'amplification de l'allèle A
					G	g.47685925C>G	0.000004003 [0 - 0.000008809 NFE]	H - Absence d'amplification de l'allèle G
g.47685933_47685934del	0.00001998 [0 - 0.00005441 EA]	H - Absence d'amplification de l'allèle G						
8 (159-162)	rs11059924	12	g.129293346	C/T	Pas de variant interférant connu			
9 (167-170)	rs2075144	19	g.46857286	G/A	Pas de variant interférant connu			
10 (172-178)	rs6795772	3	g.49365269	C/T	T	g.49365145_49365148del	-	H - Absence d'amplification de l'allèle T
						g.49365280G>A	0.00004838 [0 - 0.0001660 Other]	H - Absence d'amplification de l'allèle T
11 (183-186)	rs456261	6	g.33258443	G/A	G	g.33258320_33258321del	0.000065 [0 - 0.0001334 NFE]	H - Absence d'amplification de l'allèle G
					A	g.33258411_33258414del	-	T - Décalage du pic de l'allèle A de -4 pb, dans le bin de l'allèle G

Ne pas utiliser pour des applications diagnostiques

SNP du SNPplex					Interférence observée			
Rang (taille théorique ref-alt pb)	rs du SNPplex	Chr	Coordonnées GRCh37	Allèles (ref/alt)	Allèle du SNPplex observé par NGS	Coordonnées génomiques GRCh37 du variant interférant	Fréquence GnomAD (v2.1.1) du variant interférant [min – max population]	Type d'interférence*** - Effet observé sur SNPplex
12 (191-194)	rs1131620	19	g.41117869	A/G	A	g.41117710C>T	0.004342 [0 - 0.08419 EA]	H - Absence d'amplification de l'allèle A
						g.41117716G>A	0.0002268 [0 - 0.001847 SA]	H - Absence d'amplification de l'allèle A
						g.41117870C>G	0.00003185 [0 - 0.00006481 NFE]	H - Absence d'amplification de l'allèle A
14 (207-210)	rs2231926	3	g.73111809	A/G	G	g.41117886C>T	0.002784 [0 - 0.03111 AA]	H - Forte diminution de l'intensité du pic de l'allèle G
						g.73111825G>C	-	H - Absence d'amplification de l'allèle G
15 (215-218)	rs352169	3	g.52236762	G/A	G	g.73111828A>G	0.0008997 [0 - 0.004163 AshJ]	H - Diminution intensité du pic de l'allèle G
						g.52236739_52236740delinsAA	-	H - Absence d'amplification de l'allèle G
X (224)	Amplicon du gène <i>UBL4A</i> (ChrX) utilisé pour la détermination du sexe				-	g.153713745_153713758delinsTGACACA	-	T - Décalage d'un pic X de -6 pb, dans le bin de l'allèle A du rs352169
					-	g.153713811_153713813del	0.00001107 [0 - 0.00002490]	T - Décalage d'un pic X de -3 pb, en dehors de tout bin
Y (227)	Amplicon du gène <i>SRY</i> (ChrY) utilisé pour la détermination du sexe				Pas de variant interférant connu			
16 (240-243)	rs3739160	2	g.105654716	C/T	C	g.105654850_105654860del	0.0061496 [0 - 0.01051 NFE]	T - Décalage du pic de l'allèle T de -11 pb. NB : un bin pour chaque allèle (C ou T) est prévu à cet effet.
					T	g.105654700G>C	0.002605 [0 - 0.02738 AF]	H - Absence d'amplification de l'allèle T
						g.105654710G>T	0.0008594 [0 - 0.009135 AF]	H - Absence d'amplification de l'allèle T

** Liste établie d'après l'expérience des utilisateurs. Des variants interférant avec le SNPplex autres que ceux listés peuvent être mis en évidence. Merci de les signaler afin d'enrichir la liste.

*** H : Interférence sur hybridation d'un des primers ; T : interférence sur la taille du produit de PCR

Tableau VIII.3.2 – Liste des SNP étudiés et liste des variants connus pour interférer avec le SNPXplex (version du génome : GRCh38)**

SNP du SNPXplex					Interférence observée							
Rang (taille théorique ref-alt pb)	rs du SNPXplex	Chr	Coordonnées GRCh38	Allèles (ref/alt)	Allèle du SNPXplex observé par NGS	Coordonnées génomiques GRCh38 du variant interférant	Fréquence GnomAD (v2.1.1) du variant interférant [min – max population]	Type d'interférence*** - Effet observé sur SNPXplex				
1 (103-106)	rs11702450	21	g.46283735	G/A	Pas de variant interférant connu							
2 (111-114)	rs843345	3	g.184188727	T/C	T	g.184188729C>T	0.00002805 [0 - 0.00006212 NFE]	H - Absence d'amplification de l'allèle T				
3 (119-122)	rs1058018	17	g.48922889	C/T	C	g.48922890G>A	0.00003990 [0 - 0.00006173 AF]	H - Absence d'amplification de l'allèle C				
					T	g.48922802_48922823del	-	H - Absence d'amplification de l'allèle T				
						g.48922822_48922825del	0.0006751 [0 - 0.001350 SA]	T - Décalage du pic de l'allèle T de -4 pb, dans le bin de l'allèle C				
4 (127-130)	rs8017	16	g.2771572	C/T	C	g.48922898C>T	-	H - Absence d'amplification de l'allèle T				
						g.2771565_2771566del	0.0001944 [0 - 0.0006206 SA]	H - Absence d'amplification de l'allèle C				
					T	g.2771628_2771630del	0.00004382 [0 - 0.0002025 Latino]	T - Décalage du pic de l'allèle C de -3 pb, en dehors de tout bin				
						g.2771565_2771566del	0.0001944 [0 - 0.0006206 SA]	H - Absence d'amplification de l'allèle T				
5 (135-138)	rs3738494	1	g.42659188	C/T	C	g.2771569del	-	H - Absence d'amplification de l'allèle T				
						g.2771657T>C	-	H - Absence d'amplification de l'allèle T				
					T	g.42659281C>T	0.00004949 [0.00 - 0.00008514 NFE]	H - Absence d'amplification de l'allèle C				
6 (143-146)	rs1065483	17	g.5381475	G/A	T	g.42659282C>T	-	H - Absence d'amplification de l'allèle T				
						g.42659188_42659191delinsT	-	T - Décalage du pic de l'allèle T de -3 pb, dans le bin de l'allèle C				
					Pas de variant interférant connu				A	g.46266018C>A	0.00007103 [0 - 0.00001550 NFE]	H - Absence d'amplification de l'allèle A
					Pas de variant interférant connu					g.46266019A>G	0.00003997 [0 - 0.00005442 EA]	H - Absence d'amplification de l'allèle A
7 (151-154)	rs2839181	21	g.46266025	A/G	G	g.46266022G>A	-	H - Absence d'amplification de l'allèle A				
						g.46266011C>G	0.000004003 [0 - 0.000008809 NFE]	H - Absence d'amplification de l'allèle G				
						g.46266019_46266020del	0.00001998 [0 - 0.00005441 EA]	H - Absence d'amplification de l'allèle G				
8 (159-162)	rs11059924	12	g.128808801	C/T	Pas de variant interférant connu							
9 (167-170)	rs2075144	19	g.46354029	G/A	Pas de variant interférant connu							
10 (172-178)	rs6795772	3	g.49327836	C/T	T	g.49327712_49327715del	-	H - Absence d'amplification de l'allèle T				
						g.49327847G>A	0.00004838 [0 - 0.0001660 Other]	H - Absence d'amplification de l'allèle T				
11 (183-186)	rs456261	6	g.33290666	G/A	G	g.33290543_33290544del	0.000065 [0 - 0.0001334 NFE]	H - Absence d'amplification de l'allèle G				
						A	g.33290634_33290637del	-	T - Décalage du pic de l'allèle A de -4 pb, dans le bin de l'allèle G			

Ne pas utiliser pour des applications diagnostiques

Date de libération du
lot : 24/04/24

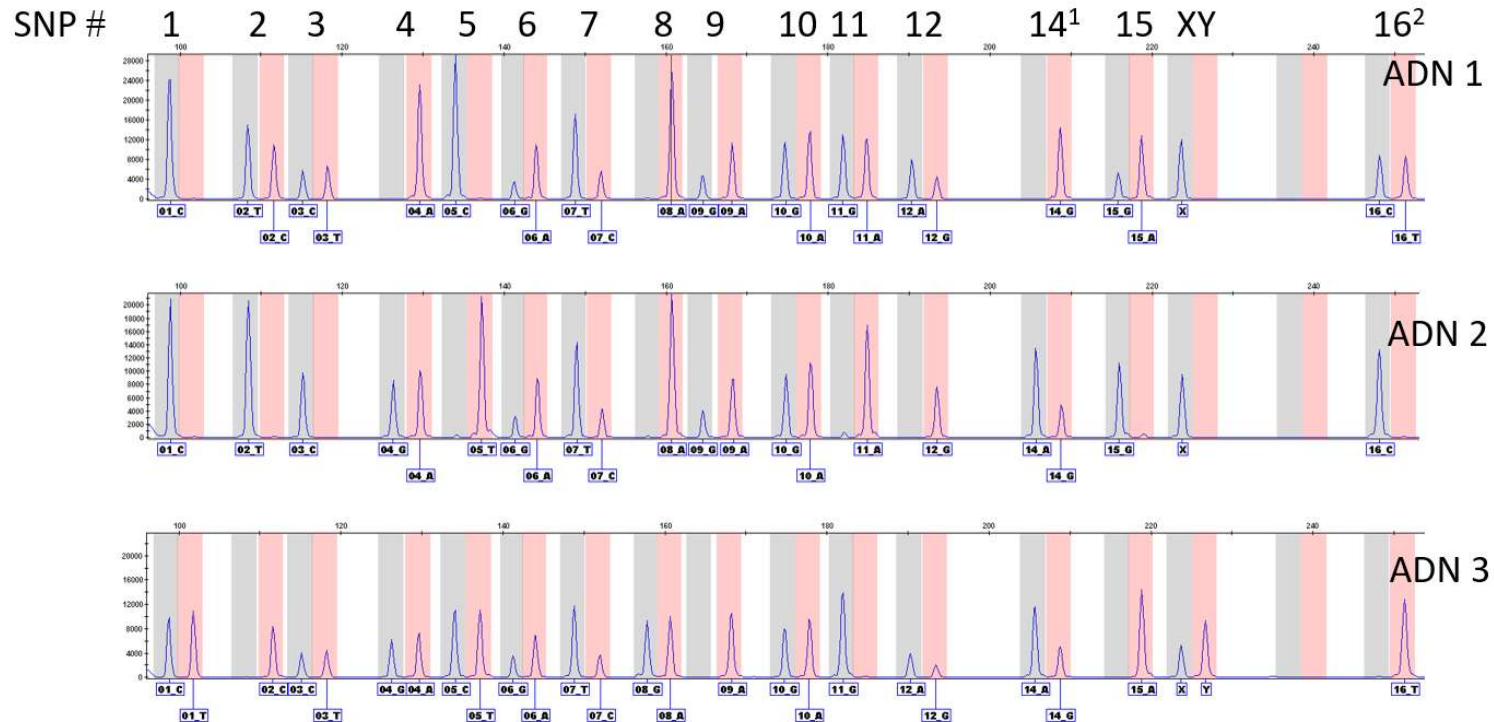
n° lot : XP27.C.02

SNP du SNPplex					Interférence observée			
Rang (taille théorique ref- alt pb)	rs du SNPplex	Chr	Coordonnées GRCh38	Allèles (ref/alt)	Allèle du SNPplex observé par NGS	Coordonnées génomiques GRCh38 du variant interférant	Fréquence GnomAD (v2.1.1) du variant interférant [min – max population]	Type d'interférence*** - Effet observé sur SNPplex
12 (191-194)	rs1131620	19	g.40611963	A/G	A	g.40611804C>T	0.004342 [0 - 0.08419 EA]	H - Absence d'amplification de l'allèle A
						g.40611810G>A	0.0002268 [0 - 0.001847 SA]	H - Absence d'amplification de l'allèle A
						g.40611964C>G	0.00003185 [0 - 0.00006481 NFE]	H - Absence d'amplification de l'allèle A
14 (207-210)	rs2231926	3	g.73062658	A/G	G	g.40611980C>T	0.002784 [0 - 0.03111 AA]	H - Forte diminution de l'intensité du pic de l'allèle G
						g.73062674G>C	-	H - Absence d'amplification de l'allèle G
15 (215-218)	rs352169	3	g.52202746	G/A	G	g.73062677A>G	0.0008997 [0 - 0.004163 AshJ]	H - Diminution intensité du pic de l'allèle G
						g.52202723_52202724delinsAA	-	H - Absence d'amplification de l'allèle G
X (224)	Amplicon du gène <i>UBL4A</i> (ChrX) utilisé pour la détermination du sexe				-	g.154485406_154485419delinsTGACACA	-	T - Décalage d'un pic X de -6 pb, dans le bin de l'allèle A du rs352169
					-	g.154485472_154485474del	0.00001107 [0 - 0.00002490]	T - Décalage d'un pic X de -3 pb, en dehors de tout bin
Y (227)	Amplicon du gène <i>SRY</i> (ChrY) utilisé pour la détermination du sexe				Pas de variant interférant connu			
16 (240-243)	rs3739160	2	g.105038258	C/T	C	g.105038392_105038402del	0.0061496 [0 - 0.01051 NFE]	T - Décalage du pic de l'allèle T de -11 pb. NB : un bin pour chaque allèle (C ou T) est prévu à cet effet.
					T	g.105038242G>C	0.002605 [0 - 0.02738 AF]	H - Absence d'amplification de l'allèle T
						g.105038252G>T	0.0008594 [0 - 0.009135 AF]	H - Absence d'amplification de l'allèle T

** Liste établie d'après l'expérience des utilisateurs. Des variants interférant avec le SNPplex autres que ceux listés peuvent être mis en évidence. Merci de les signaler afin d'enrichir la liste.

*** H : Interférence sur hybridation d'un des primers ; T : interférence sur la taille du produit de PCR

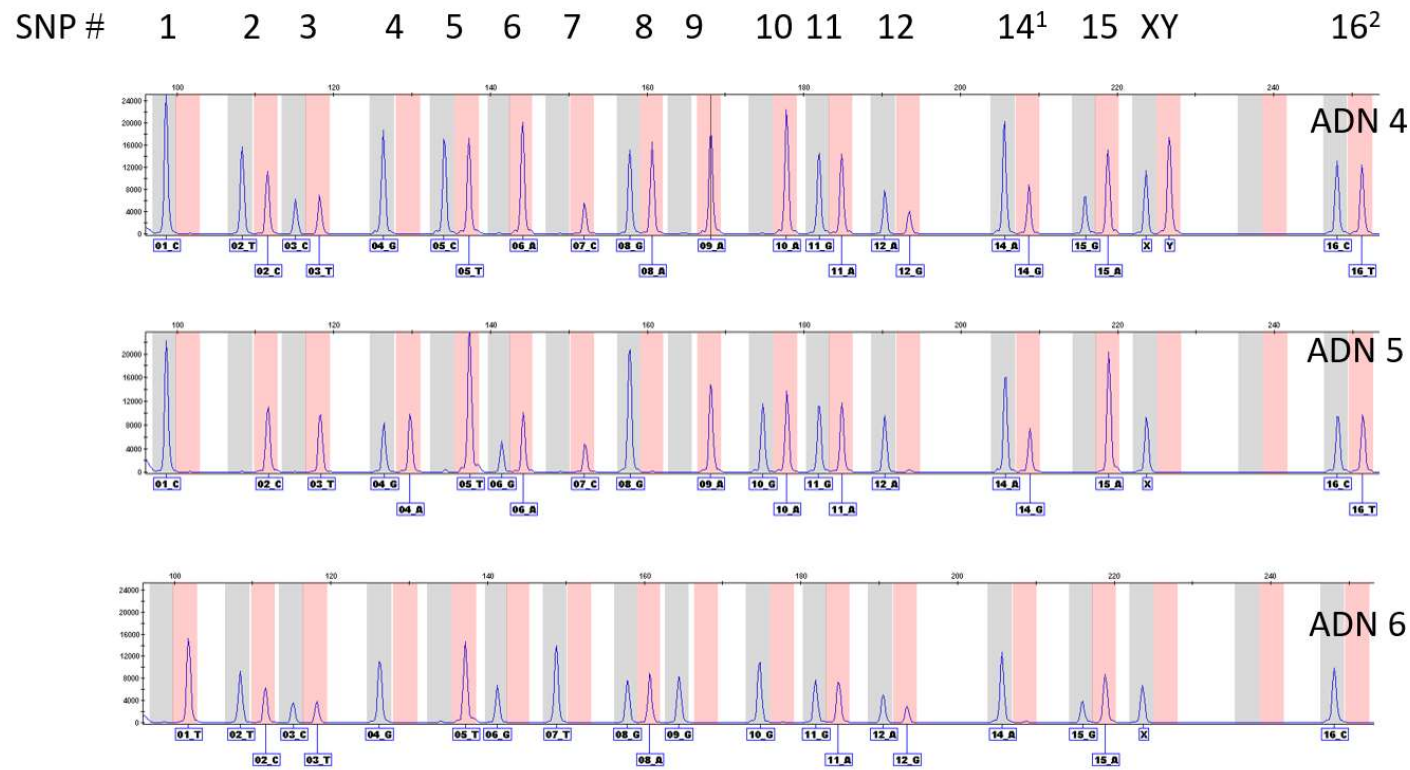
X. Exemple de profils



¹ Il n'y a pas de SNP13

² pour ce SNP, le rs368436190 (fréquence maximum=0.01067 chez european [Non-Finnish]) entraîne une délétion de 11pb dans le produit de PCR, d'où la présence de 2 bins par allèle, l'un pour les allèles ne portant pas le rs 368436190, le second pour les allèles portant le rs 368436190

En gris l'allèle de référence, en rose l'alternatif











¹ Il n'y a pas de SNP13

² pour ce SNP, le rs368436190 (fréquence maximum=0.01067 chez european [Non-Finnish]) entraîne une délétion de 11pb dans le produit de PCR, d'où la présence de 2 bins par allèle, l'un pour les allèles ne portant pas le rs 368436190, le second pour les allèles portant le rs 368436190

En gris l'allèle de référence, en rose l'alternatif.

XI. Identification des symboles

Symbole	Description
	Ce symbole indique l'adresse du fabricant.
	Date de fabrication.
	Consulter la notice avant utilisation. Un QR Code permet l'accès à votre notice.
	Date limite d'utilisation. Ce symbole indique la date après laquelle le dispositif médical ne doit plus être utilisé.
	Ce symbole indique la température de stockage optimale.
	Ce symbole indique la référence catalogue du fabricant de manière à pouvoir identifier formellement le dispositif.
	Ce symbole indique le code de lot du fabricant de manière à pouvoir identifier formellement le lot.
	Ce symbole indique que le contenu est suffisant pour « n » essais.